

Progetto per Alternanza Scuola Lavoro del Dipartimento di Biologia e Biotecnologie

Laboratorio di Genetica Evolutiva e di Popolazioni

Docenti responsabili:

Prof. ALESSANDRO ACHILLI, alessandro.achilli@unipv.it

Prof. ANNA OLIVIERI, anna.olivieri@unipv.it

Prof. ORNELLA SEMINO, ornella.semino@unipv.it

Prof. ANTONIO TORRONI, Antonio.torroni@unipv.it

Periodo: dal 29 giugno all'8 luglio 2016, dalle ore 9.30 alle ore 17:00 (8 giorni lavorativi per un totale di 60 ore)

Titolo del Progetto: Analisi di marcatori genetici a trasmissione uniparentale in popolazioni umane ed animali.

Al momento della fecondazione lo zigote riceve metà del DNA dalla madre e metà dal padre. Il contributo dello spermatozoo differisce però da quello della cellula uovo per due caratteristiche distinte e complementari: (a) non fornisce mitocondri vitali, che pure possiedono un proprio genoma circolare (~16570 paia di basi), per cui il DNA mitocondriale (mtDNA) è trasmesso per sola via materna; (b) solo lo spermatozoo fornisce il cromosoma Y in metà delle fecondazioni (dando vita a embrioni maschili), e pertanto il cromosoma Y è trasmesso per sola via paterna. L'mtDNA e la porzione maschio-specifica del cromosoma Y (MSY) non ricombinano durante la meiosi, e ciò fa sì che il primo sia un registro molecolare della "storia" delle femmine, attraverso le quali è stato trasmesso, mentre il secondo riassume la "storia" dei maschi. Quindi, questi due sistemi di trasmissione uniparentale forniscono informazioni genetiche complementari, che possono essere confrontate sia tra loro, sia con quelle ottenute dal cromosoma X e dagli autosomi.

Data l'assenza di ricombinazione, il differenziamento dell'mtDNA e della regione MSY è avvenuto solo per l'accumulo sequenziale di nuove mutazioni lungo linee di radiazione, nel primo caso esclusivamente materne, nel secondo esclusivamente paterne. Nel corso del tempo, questo processo di divergenza molecolare ha dato origine a entità monofiletiche che sono chiamate aplogruppi. Nel caso della specie umana, poiché il processo di differenziazione molecolare è avvenuto in gran parte durante e dopo il processo di colonizzazione delle varie regioni e continenti, gli aplogruppi e i sotto-aplogruppi tendono a essere limitati a specifiche aree geografiche e gruppi di popolazioni. Quindi l'identificazione molecolare degli aplogruppi, la quantificazione della loro variabilità interna, e l'analisi della loro distribuzione etnico-geografica possono fornire dati importanti sull'origine dell'Uomo (e di altre specie animali) e sui processi genetici e demografici che hanno generato le popolazioni moderne.

Attività di Laboratorio:

1. estrazione del DNA totale (umano o animale);
2. quantificazione e valutazione della purezza del DNA estratto;
3. analisi del DNA estratto mediante elettroforesi su gel d'agarosio;
4. reazione di polimerizzazione a catena (PCR) del DNA e scelta degli oligonucleotidi da utilizzare;
5. amplificazione in vitro mediante PCR di sequenze specifiche del DNA mitocondriale e del cromosoma Y;
6. valutazione di prodotti PCR mediante elettroforesi su gel d'agarosio;
7. digestione del DNA ottenuto mediante PCR con enzimi di restrizione e analisi del prodotto mediante elettroforesi su gel d'agarosio;
8. sequenziamento del DNA con metodo Sanger;
9. allineamento e analisi di sequenze del DNA mitocondriale e specifiche del cromosoma Y provenienti da individui di popolazioni diverse e loro affiliazione ad aplogruppi;
10. calcolo di frequenze alleliche/aplotipiche e costruzione di alberi filogenetici mediante massima parsimonia.